stichting food industry micro methods

GOED OF SLECHT NIEUWS VAN OUDE VRIENDEN?

- even bijpraten over voedselpathogenen -

SYMPOSIUM

Wageningen, 17 maart 2011

FiMM Postbus 381 6700 AJ WAGENINGEN

Tel 06 44 834 988 e-mail info@fimm.nl www.fimm.nl

stichting food industry micro methods

SYMPOSIUM

"GOED OF SLECHT NIEUWS VAN OUDE VRIENDEN?"
- even bijpraten over voedselpathogenen -

Donderdag 17 maart 2011, Hof van Wageningen te Wageningen

Programma

09.30-10.00	Ontvangst, koffie, thee
10.00-10.10	Inleiding *Dr. Rijkelt Beumer (Wageningen Universiteit)*
10.10-10.40	Pathogene sporenvormers: *Bacillus* belangrijker dan *Clostridium?* *Dr. Ir. Heidy den Besten (Wageningen Universiteit)*
10.40-11.10	Campylobacters: nog steeds een uitdaging? *Wilma Hazeleger (Wageningen Universiteit)*
11.10-11.40	Koffie, thee
11.40-12.10	*Staphylococcus aureus:* een goede verklikker voor slechte hygiëne? *Dr. Ir. Paul in 't Veld (nieuwe Voedsel en Warenautoriteit, Eindhoven)*
12.10-12.40	*Cronobacter:* een link naar een reservoir? *Dr. Ir. Martine Reij (Wageningen Universiteit)*
12.40-13.45	Lunch
13.45-14.15	*Salmonella:* nooit weggeweest! *Drs. Kirsten Mooijman (RIVM, Bilthoven)*
14.15-14.45	*Listeria monocytogenes*: wat te doen met kolonies zonder halo op ALOA? *Dr. Rijkelt Beumer (Wageningen Universiteit)*
14.45-15.15	*Escherichia coli* in al zijn/haar facetten *Dr. Ir. Annet Heuvelink (nieuwe Voedsel en Warenautoriteit, Zutphen)*
15.15-15.30	Afsluiting *Dr. Rijkelt Beumer (Wageningen Universiteit)*
15.30	Koffie, thee, borrel

Voor elke pathogeen wordt een (kort) overzicht gegeven met de belangrijkste kenmerken, een beetje historie, een leuke uitbraak, en de huidige stand van zaken. Voor dit laatste onderdeel kan je denken aan trends: nemen uitbraken en sterftecijfers toe (of af), is er een toename van ziektegevallen bij bepaalde risicogroepen. Of is er sprake van resistentie, zijn er nieuwe reservoirs gevonden, of is er een ander belangrijk feit te melden uit geregistreerde gevallen. Ja, en dan eindigt het met een wijze raad: het zou het meest effectief zijn om …

Postbus 381
6700 AJ Wageningen

e-mail: info@fimm.nl
tel. 0644 834 988

ING: 4691195
btw: 807480708B01

Sporenvormende pathogenen
Oude bekenden: een vernieuwde kennismaking

Heidy M.W. den Besten
Wageningen Universiteit
Laboratorium voor Levensmiddelenmicrobiologie

Bacillus cereus en *Clostridium perfringens* hebben twee belangrijke eigenschappen gemeen: (i) ze kunnen ons ziek maken omdat ze toxines kunnen produceren en (ii) omdat ze sporen kunnen maken, kunnen deze pathogenen zeer ongunstige omstandigheden overleven. Bacteriesporen zijn moeilijk te vernietigen omdat deze zeer resistent zijn tegen onder andere hoge temperatuur, uitdroging, hoge druk en straling. Het is daarom niet verwonderlijk dat sporen overal aanwezig kunnen zijn: in de lucht en grond, in en op apparatuur en in grondstoffen van levensmiddelen. Sporen overleven veel productieprocessen en worden pas bij zeer hoge temperatuur (sterilisatietemperatuur) vernietigd. Als sporen het productieproces overleven, kunnen ze tijdens het bewaren van het product ontkiemen en uitgroeien als de omstandigheden gunstig genoeg zijn. Langzaam afkoelen van bereid eten, geeft *B. cereus* de gelegenheid uit te groeien en toxines te produceren. In 2000 werd tijdens een introductiekamp van de Hogeschool Diemen nasi geserveerd aan de 120 aanwezige vegetariërs. Binnen een kwartier werden de eerste mensen niet lekker en uiteindelijk werden 116 vegetariërs ziek. In alle monsters van het braaksel werd *B. cereus* gevonden. Ook de monsters genomen uit de restanten van de vegetarische nasi, bevatte *B. cereus.* De duur van een *B. cereus* infectie is meestal relatief kort en na 24 uur zijn de meeste mensen weer opgeknapt. Uit een onderzoek van Wijnands *et al*. (2006) bleek dat *B. cereus* in veel verschillende levensmiddelen aangetroffen kan worden. Wanneer *B. cereus* de kans krijgt om te ontkiemen en uit te groeien onder niet ideale groei omstandigheden zoals in mild geconserveerde producten, dan moet de bacterie zich aanpassen. Dit aanpassingsgedrag geeft de cel bescherming en de mogelijkheid te overleven en te groeien in het product, en kan er ook voor zorgen dat *B. cereus* makkelijker overleeft wanneer het product wordt opgewarmd voor consumptie. Wanneer *B. cereus* zich aanpast aan niet ideale groeiomstandigheden, maakt de bacterie eiwitten en enzymen aan die bescherming geven (Den Besten *et al*. 2010). Een belangrijk eiwit, SigmaB, reguleert de aanmaak van een aantal belangrijke beschermeiwitten. De aanwezigheid van deze regulator in de bacterie kan dus een indicatie – een biomarker – zijn voor verhoogde resistentie. Om verhoogde resistentie door milde stress blootstelling beter te begrijpen en te kunnen voorspellen, is onderzocht of de regulator SigmaB een potentiële biomarker zou kunnen zijn voor verhoogde resistentie (Den Besten *et al*. 2010). Daarom is SigmaB gemeten in *B. cereus* tijdens milde stress blootstelling. Daarnaast is de resistentie van mild gestresste *B. cereus* cellen bepaald en vergeleken met de mate van aanwezigheid van SigmaB. Hieruit bleek dat het resistentieniveau van *B. cereus* zeer goed overeenkwam met de aanwezigheid van SigmaB. Deze regulator lijkt dus een goede indicator voor resistentie. Resistentie van voedselpathogenen is niet gewenst omdat hierdoor de kans bestaat dat meer bacteriën overleven in voedingsproducten en in het maag-darm kanaal. Het aantonen van resistentie van pathogenen in een vroeg stadium helpt om resistentie beter te beheersen en milde conservering te optimaliseren.

Referenties

1. Den Besten, H. M. W., A. Arvind, H. M. S. Gaballo, R. Moezelaar, M. H. Zwietering, and T. Abee. 2010. Short- and long-term biomarkers for bacterial robustness: a framework for quantifying correlations between cellular indicators and adaptive behavior. PLoS ONE 5:e13746.
2. Wijnands, L. M., J. B. Dufrenne, F. M. Rombouts, P. H. in 't Veld, and F. M. van Leusden. 2006. Prevalence of potentially pathogenic *Bacillus cereus* in food commodities in The Netherlands. J. Food Prot. 69:2587-2594.

Sporenvormers

oude bekenden; een vernieuwde kennismaking

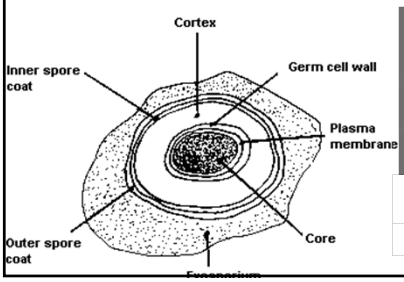
Heidy den Besten

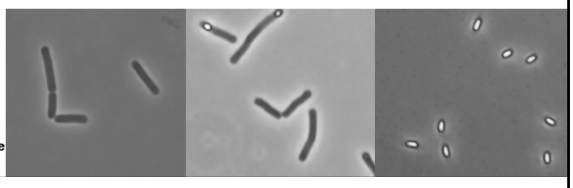
WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Sporenvormende pathogenen

Bacillus cereus	*Clostridium perfringens*
aeroob	anaeroob (aerotolerant)

sporen zijn resistent tegen uitdroging, straling, verhitten, …..





Problemen met sporenvormende pathogenen

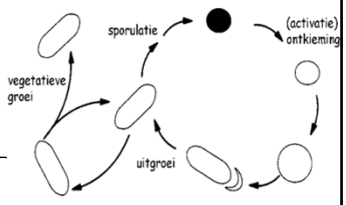
- overal aanwezig: grondstoffen, omgeving, apparatuur, eindproducten

- overleving productieprocessen

- ontkieming/uitgroei tijdens bewaren

- kan leiden tot bederf,

  voedselvergiftigingen of -infecties



WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Bacillus cereus, een oude bekende ... 1887

Philos. Trans. R. Soc Lond. B. Biol Sci.

XI. *Studies on some New Micro-organisms obtained from Air.*

By GRACE C. FRANKLAND *and* PERCY F. FRANKLAND, *Ph.D., B.Sc. (Lond.), F.C.S., F.I.C., Assoc. Roy. Sch. of Mines.*

Communicated by E. RAY LANKESTER, *M.A., F.R.S., Professor of Zoology, University College, London.*

Received February 15,—Read March 3, 1887.

[PLATES 17–20.]

173 257-287

CONTENTS.

List of Bacilli 270
Bacillus aurescens 271
„ aureus 272
„ citreus 272
„ plicatus 273
„ chlorinus 274
„ polymorphus 275
„ profusus 276
„ pestifer 277
„ laevis 278
„ cereus 279
„ subtilis (Hay bacillus) 281

WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

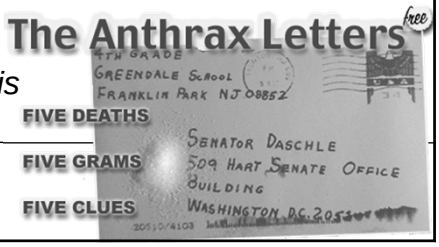
Bacillus cereus groep: divers

6 geslachten binnen de *Bacillus cereus* groep

- *B. mycoides*
- *B. pseudomycoides*
- *B. weihenstephanensis*
- *B. thuringiensis*
- *B. anthracis*
- *B. cereus*

B. thuringiensis

B. antracis



WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Bacillus cereus groep: divers

6 geslachten binnen de *Bacillus cereus* groep

- *B. mycoides*
- *B. pseudomycoides*
- *B. weihenstephanensis*
- *B. thuringiensis*
- *B. anthracis*
- *B. cereus*

APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, June 2000, p. 2627–2630 Vol. 66, No. 6
0099-2240/00/$04.00+0
Copyright © 2000, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Bacillus anthracis, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis*—
One Species on the Basis of Genetic Evidence

ERLENDUR HELGASON,[1,2] OLE ANDREAS ØKSTAD,[1,2] DOMINIQUE A. CAUGANT,[3]
HENNING A. JOHANSEN,[1] AGNES FOUET,[4] MICHÉLE MOCK,[4] IDA HEGNA,[1,2]
AND ANNE-BRIT KOLSTØ[1,2]*

Bacillus cereus

- maakt toxines

  - in voedsel (vergiftiging)
    hittestabiel braaktoxine: cereulide
    korte incubatietijd (0.5 – 5 uur)
    duur symptomen ca 24 uur

  - in de darm (infectie)
    enterotoxines
    incubatietijd 6 – 24 uur
    duur symptomen ca 24 uur

WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

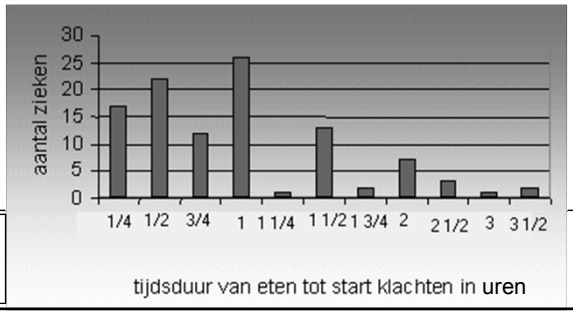
Uitbraak: braken met z'n allen

- augustus 2000: introductiekamp BSc studenten, Almere
- 1275 studenten: 120 vegetariërs
- 116 vegetariërs worden ziek: hoofdpijn, overgeven, koorts
- Attack rate: 116/120 ≈ 97%

bron: RIVM

Uitbraak: braken met z'n allen

te langzame afkoeling van bereid voedsel



bron: RIVM

Bezorgt *B. cereus* ons veel last?

VWA

melding door artsen

WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Melding bij de VWA

Ziekteverwekker	2009		2008	2007
B. cereus	25	5.5%	3.8%	3.7%
S. aureus	6	1.3%	1.4%	2.3%
C. perfringens	5	1.1%	0.5%	0.5%
Norovirus	4	0.9%	1.9%	0.5%
Salmonella	2	0.4%	0.5%	0.2%
Campylobacter	0	0%	0.3%	0.2%
overige	4	0.8%	0.3%	1.8%
totaal bekend	46	10%	8.7%	9.2%
verwekker onbekend	412	90%	91.3%	90.8%
totaal	458	100%	100%	100%

WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Melding via artsen

Ziekteverwekker	2009		2008	2007
Salmonella	12	34%	48%	36%
Campylobacter	12	34%	18%	23%
Norovirus	2	6%	2%	16%
E. coli O157	1	3%	0%	0%
C. perfringens	0	0%	0%	2%
overige	0	0%	5%	0%
totaal bekend	27	77%	73%	77%
verwekker onbekend	8	23%	27%	23%
totaal	35	100%	100%	100%

WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

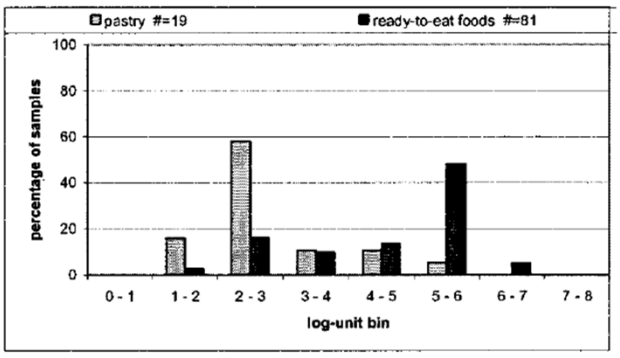
Werkelijke aantallen ?

gemeld

niet gemeld

WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Sporenvormers en kant-en-klaar producten



B. cereus in kant-en-klaar producten

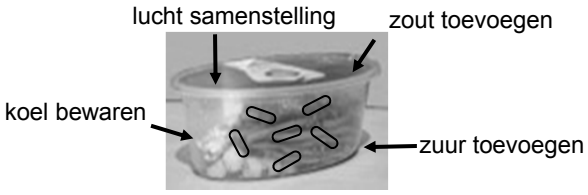
WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Wijnands, 2006

Sporenvormers overleven milde conservering

WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Sporenvormers overleven milde conservering



- Bacteriegroei wordt onder controle gehouden door combinatie van milde conserveringstechnieken

WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Milde stress kan resistentie induceren

stress

stress voelen

activatie sigmaB

eiwit aanmaak

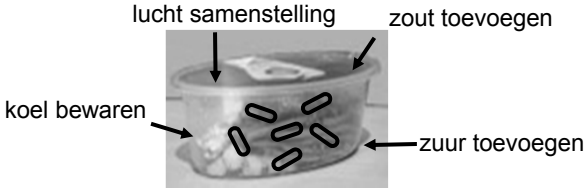
aanpassingsgedrag

inactivatie snelheid ↓

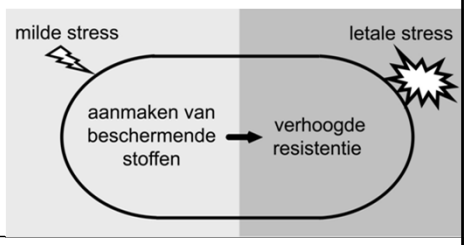
voedselveiligheid

WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Sporenvormers overleven milde conservering



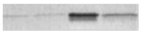
- Mild gestresste cellen kunnen verhoogde resistentie hebben



WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

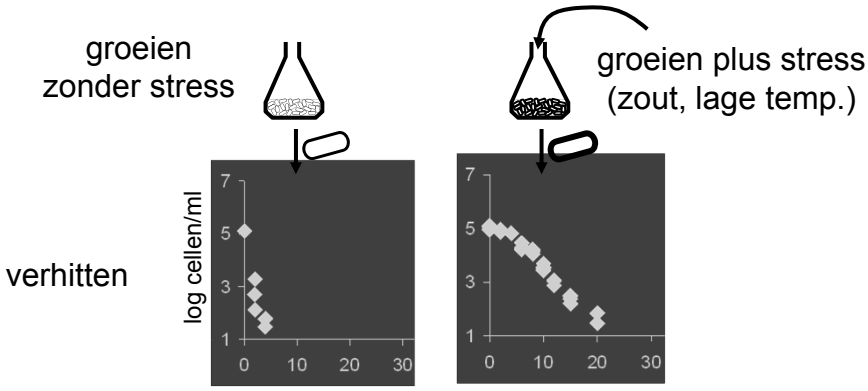
Kwantificeren en voorstellen van gedrag

- Kwantificeren: meten en vergelijken van effecten
- Voorspellen: hoe past de cel zich aan en is dit gedrag te voorspellen?



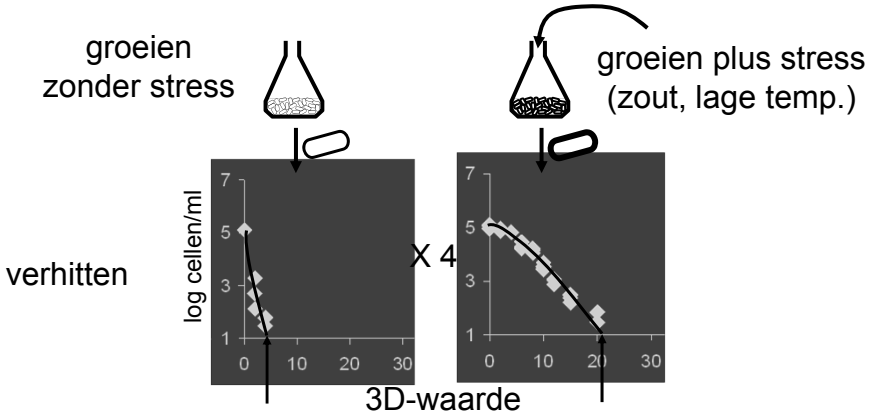
WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Aanpassingsgedrag



WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

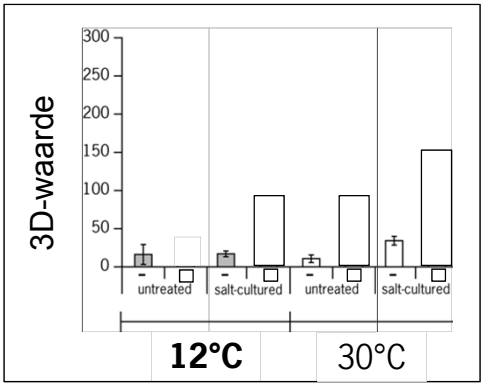
Aanpassingsgedrag



kwantificeren: meten en vergelijken van effecten

WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Meten en vergelijken van effecten

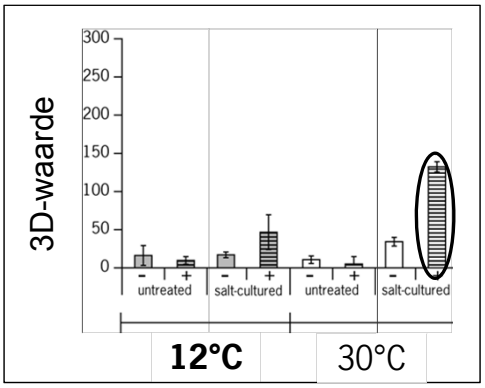


groeien plus stress:

zout, lage temperatuur

WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Meten en vergelijken van effecten

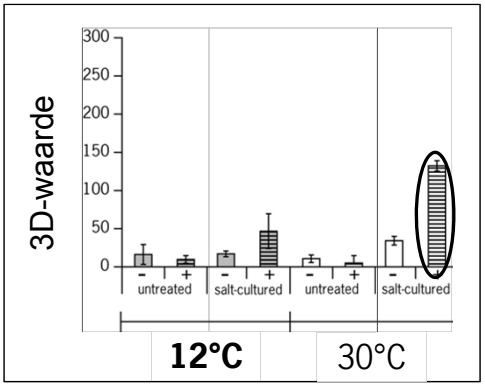


verhitten plus zout

Hoofdzaken van bijzaken onderscheiden

WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Meten en vergelijken van effecten



verhitten plus zout

Aanpassingsgedrag wordt beinvloed door soort stress

WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

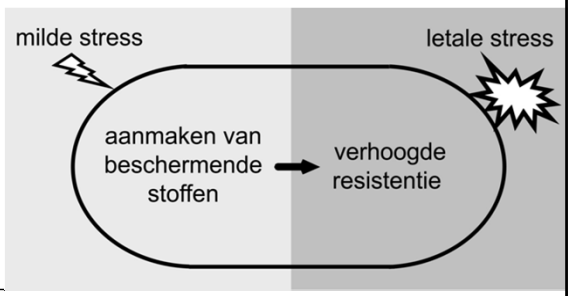
Gedrag in de cel

- Kunnen we gedrag voorspellen?

WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Gedrag in de cel

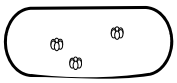
- Stoffen in de cel – eiwitten, enzymen – geven bescherming
- Hun aanwezigheid is een indicatie voor verhoogde resistentie: biomarker



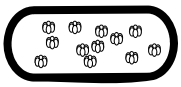
WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Gedrag in de cel

- Stoffen in de cel – eiwitten, enzymen – geven bescherming
- Hun aanwezigheid is een indicatie voor verhoogde resistentie: biomarker



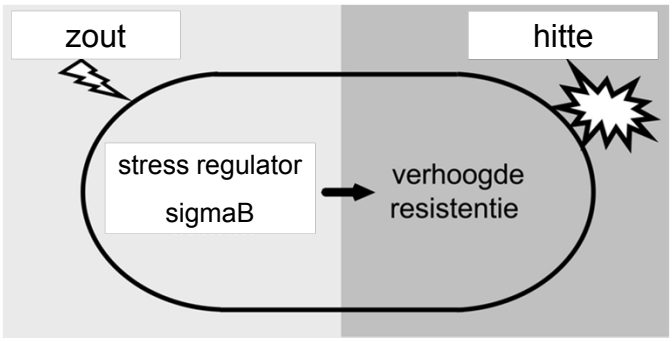
niet gestresste cel



mild gestresste cel

WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Voorspellen van aanpassingsgedrag

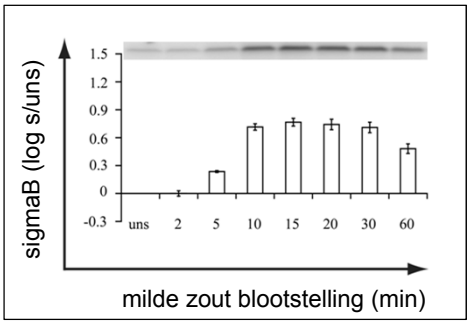


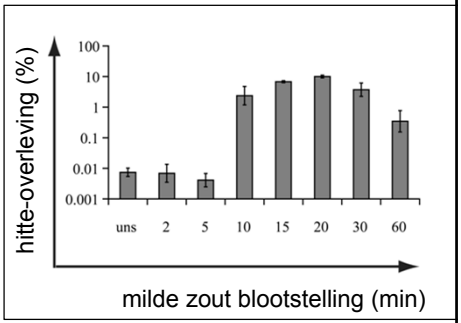
- Kan sigmaB het aanpassingsgedrag voorspellen?

WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Footer

Voorspellen van aanpassingsgedrag

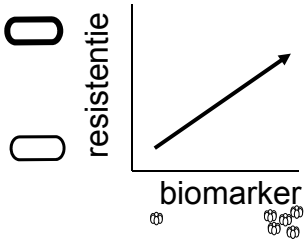




- SigmaB niveau komt overeen met mate van zout geïnduceerde hitteresistentie
  → ~~potentiële~~ biomarker

Gedrag in de cel

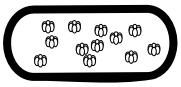
- Biomarkers voorspellen resistentie niveau van mild gestresste *Bacillus cereus*



- Biomarkers zijn ook aanwezig in andere bacteriën dan *Bacillus cereus*: mogelijke bredere toepassing

Conclusies

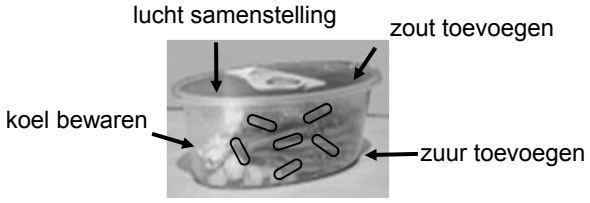
- Kwantificeren: meten en vergelijken van effecten
- Moleculaire biomarkers kunnen aanpassingsgedrag voorspellen



WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

Oude bekende, een vernieuwde kennismaking

- Pathogenen: resistentie niet gewenst
- Voorspellen van resistentie helpt om dit beter te beheersen en milde conservering te optimaliseren



WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR